

CACAH SPERMATOZOA MENGGUNAKAN BACKGROUND SEGMENTATION DAN BOUNDARY DETECTION

Moch. Hatta ¹⁾, I Gede Susrama ²⁾, I Ketut Edi Purnama ³⁾, M. Hariadi⁴⁾

¹⁾ Program Magister (S2) Teknik Elektro ²⁾ Program Doktor (S3) Teknik Elektro, ^{3,4)} Teknik Elektro FTI-ITS, Surabaya, email : resaearch.sperm@gmail.com

Abstract, Penentuan cacah spermatozoa secara konvensional bergantung pada keberadaan ahli di mana penilaiannya bersifat subjektif. Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA) sangat membantu memecahkan masalah ini. Umumnya CASA dan para peneliti di bidang ini menggunakan phase contrast microscope untuk mendapatkan image dengan kontras yang lebih tinggi. Namun dalam penelitian ini penentuan posisi dan gerakan spermatozoa pada video dilakukan menggunakan rekaman video yang berasal dari bright field microscope yang berkontras rendah dengan berbagai distorsi tambahan. Dengan kombinasi beberapa metode yaitu background segmentation, pengaturan kontras dengan berpatokan pada Otsu threshold, proses filtering menggunakan Morfologi untuk menentukan batas objek dan pelabelan. Dari hasil percobaan ternyata metode di atas mampu melakukan penghitungan sperma secara otomatis pada data sintetis maupun data real dengan akurasi 82%.

Keywords: cairan semen, deteksi sperma, background segmentation, operasi morfologi.

Pemeriksaan sperma merupakan salah satu elemen penting dalam penilaian fertilitas atau infertilitas. Pemeriksaan sperma meliputi :

- a. makroskopis : pada pemeriksaan ini dilakukan analisis terhadap beberapa karakteristik fisik dari cairan sperma (yaitu bau, kekentalan, dan pH)
- b. mikroskopis : pada pemeriksaan ini dianalisa *spermatozoa* dengan beberapa parameter, antara lain : konsentrasi, motilitas dan morfologi.

Pemeriksaan sperma dititikberatkan pada proses mikroskopis, yakni : jumlah *spermatozoa*/ml, jumlah *spermatozoa* motil dan persentase *spermatozoa* berbentuk normal. Walaupun demikian, kita tidak dapat mengabaikan nilai pemeriksaan sperma yang lain. Misalnya sperma yang tidak mengandung spermatozoa dengan volume kecil dan pH asam, memberikan dugaan suatu kelainan tertentu dari sistem reproduksi pria.

Penentuan jumlah *spermatozoa* motil dilakukan perkiraan kasar yakni hanya dengan menghitung jumlah sperma yang ada di 4 lapang pandang lalu dikalikan 106 maka akan didapat konsentrasi *spermatozoa* motil/ml. Kalau dilihat perlapang pandang didapatkan nol *spermatozoa* maka tidak akan dilakukan pemeriksaan konsentrasi lanjutan.

Umumnya penentuan jumlah *spermatozoa* motil /ml di atas ditentukan secara subjektif oleh seseorang yang ahli karena ketiadaan peralatan standar untuk menguji.

Metode ini akan menimbulkan perbedaan hasil penentuan jika dilakukan oleh ahli yang berbeda. Saat ini sistem CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*) adalah sistem yang lebih baku dan terukur. Namun, cara kerjanya dan metode perangkat lunak yang digunakan tidak secara terbuka bisa diakses.

Tujuan dari penelitian ini untuk menghitung jumlah *spermatozoa* aktif, dengan lokasi pengamatan yang berbeda beda, dan mampu mencapai akurasi yang lebih baik dan bisa mengurangi subjektif pemeriksaan. Penelitian ini dilakukan pada video yang didapat dari pengamatan sperma melalui mikroskop yang pada posisi lensa okuler menggunakan kamera *Point Grey* dan lensa objektif dengan perbesaran 40 kali. Proses yang dilakukan dalam penelitian ini dibagi dalam dua tahap, yaitu : *background segmentation*, yaitu : proses memisahkan antara latar depan dan latar belakang menggunakan metode *Otsu* sebagai batasnya. menghilangkan noise menggunakan *morphological filtering* dan menentukan deteksi tepi yang akan menghasilkan luasan kontur yang ada di citra biner.

Dengan mengevaluasi pergerakan *spermatozoa* melalui mikroskop, maka jumlah sperma motil, yang merupakan parameter penting dalam menentukan kualitas *spermatozoa* dapat diketahui. Penggunaan komputer dalam bidang ini terbukti sangat membantu.

Untuk mengatasi berbagai permasalahan di atas, maka dirancang sistem untuk mengidentifikasi jumlah sperma motil dengan menggunakan metode background segmentation dan deteksi tepi. Peralatan mikroskop *bright field* digunakan pada sistem dan sebuah kamera berkecepatan tinggi yang dipasang pada posisi okuler, dihubungkan dengan sebuah laptop sebagai pemroses video. Sistem ini dilengkapi kemampuan perangkat lunak untuk mendeteksi sperma gerak sperma. Identifikasi gerak spermatozoa menggunakan sistem yang dibangun bermanfaat untuk membantu tenaga ahli dalam mengetahui jumlah sperma.

Penelitian ini mampu memberikan kontribusi analisis spermatozoa melalui pendeteksi spermatozoa menggunakan *background segmentation* dan deteksi tepi. Deteksi tersebut digunakan untuk pengidentifikasian jumlah sperma motil. Sistem pengidentifikasian tersebut dapat membantu analisis motilitas sperma dan membantu kinerja tenaga ahli, sehingga objektivitas hasil analisis dapat dipertahankan.

I. METODOLOGI

Identifikasi motilitas spermatozoa merupakan salah satu uji mikroskopik sperma yang digunakan untuk menentukan kualitas sperma. Kesuksesan pembuahan sel telur dipengaruhi oleh gerakan dan keaktifan spermatozoa. Pada umumnya pengamatan motilitas ini dilakukan oleh laboran dengan mengamati spermatozoa yang bergerak melalui ruang pandang mikroskop, pengamatan ini terbantu jika ada sistem pendukung terintegrasi antara mikroskop dilengkapi kamera sebagai perekam dan komputer pengolah data. Proses identifikasi motilitas spermatozoa dimulai dari pengolahan video hasil perekaman dilanjutkan dengan penjejakan spermatozoa, menghitung sperma yang aktif.

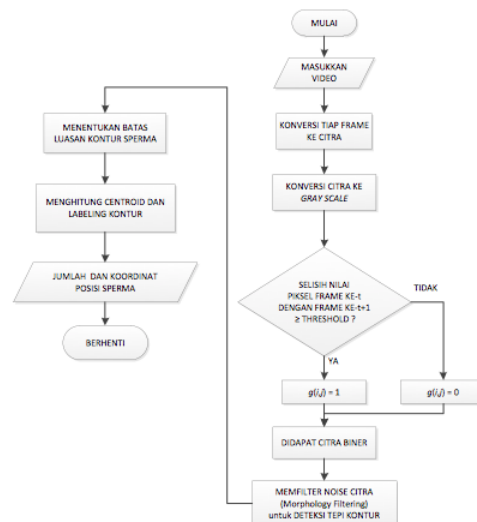
Desain Sistem

Secara umum, desain sistem otomatisasi penghitungan jumlah sperma aktif menggunakan *background segmentation* dan deteksi tepi seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Blok Sistem

Seperti terlihat pada Gambar 2, proses otomatisasi penghitungan jumlah sperma aktif dimulai dengan mengolah video sperma, video diperoleh dari data real dan data yang diperoleh dari koleksi data UNSW *Embryology*. Data real video sperma diperoleh dari hasil pemindaian cairan sperma relawan yang bersedia menyumbangkan cairan spermanya. Sebelum diamati, sampel tersebut didiamkan terlebih dahulu 20-30 menit dengan suhu ruang untuk kemudian diamati. Hal tersebut perlu dilakukan karena pada saat cairan sperma dikeluarkan perlu pengenceran supaya *spermatozoa* yang diamati tidak terlalu rapat dan dapat jelas dibedakan. Pengambilan sperma dari wadah menggunakan pipet untuk ditaruh ke dalam *object glass* diatur dengan mengupayakan hanya mengambil bagian dalam dari wadah.



Gambar 2. Diagram Alir Desain Sistem

Perekaman sampel di bawah mikroskop diatur menggunakan lensa objektif perbesaran 40 kali sehingga motilitas spermatozoa terlihat

jelas untuk diamati. *Setting* kamera dan program diatur supaya video mempunyai kontras, *brightness* dan *white balance* yang sama. Ruang pandang mikroskop diatur tidak bergerak selama proses perekaman. Video yang dihasilkan disimpan dan kemudian dikonversi untuk kemudian dapat diproses.

Setelah proses masukan, pada file video dilakukan proses segmentasi background, hasil proses ini didapat citra biner untuk frame-frame file video yang menjadi masukan. Setelah dilakukan proses segmentasi, dilanjutkan mencari kontur *image* dengan menghilangkan noise menggunakan *morphological filtering* dan menentukan deteksi tepi yang akan menghasilkan luasan kontur yang ada di citra biner. Proses selanjutnya, menentukan batas luas minimal agar citra sperma saja yang termasuk dalam perhitungan.

Keseluruhan proses yang ada di sistem diujicobakan terlebih dahulu dengan menggunakan data koleksi UNSW *Embryology*, baru kemudian menggunakan data real.

Data yang digunakan

Data video motilitas spermatozoa yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi 2 yaitu data real sperma manusia dan data uji yang diperoleh dari koleksi UNSW *Embryology*. Data dari koleksi UNSW *Embryology* digunakan sebagai penguji metode penjejakan yang digunakan.

Data real video sperma diperoleh dari hasil pemindaian cairan sperma relawan yang bersedia menyumbangkan cairan spermanya. Sebelum diamati, sampel tersebut didiamkan terlebih dahulu sekitar 20-30 menit dengan suhu ruang untuk kemudian diamati. Hal tersebut perlu dilakukan karena pada saat cairan sperma dikeluarkan perlu pengenceran supaya *spermatozoa* yang diamati tidak terlalu rapat, bergerak lebih aktif dan dapat jelas dibedakan. Pengambilan sperma dari wadah menggunakan pipet untuk ditaruh ke dalam *object glass* diatur dengan mengupayakan hanya mengambil bagian dalam dari wadah. Pengambilan video data real menggunakan *bright field microscope* yang terdapat di Laboratorium Terpadu Politeknik Kesehatan Surabaya dan kamera yang digunakan merk *Point Grey* dengan tipe FL3-U3-13S2C-CS.

Konversi video

Data sperma sapi hasil sistem mikroskop yang dibangun mempunyai kapasitas data yang tinggi, jika penjejakan dilakukan tanpa konversi dapat menyebabkan *crash*. Demikian pula dengan data uji motilitas spermatozoa koleksi UNSW *Embryology* yang berekstensi mov. Data tersebut harus dikonversi terlebih dahulu menjadi file berekstensi avi. Hal ini dilakukan karena inputan pada proses penjejakan tidak dapat membaca file berekstensi mov.

Mendapatkan Citra Biner

Pada tahapan ini dilakukan proses segmentasi untuk membedakan atau memisahkan objek yang diamati dengan latar belakangnya (*background*) untuk mendapatkan citra hitam putih. Sebagai masukan citra *gray scale*, pada frame ke-*t* dan frame ke-*t+1* dihitung selisih nilai seluruh piksel. Dimana nilai selisih pada piksel yang lebih kecil dari nilai *otsu threshold*, maka nilai warna diubah menjadi 0 dan jika nilai lebih besar atau sama dengan dari nilai *threshold* maka nilai warna dirubah menjadi 1.

Proses Filtering

Fitur dari citra yang telah diperoleh dari proses segmentasi biasanya masih terdapat *noise*, hal ini diakibatkan dari objek yang tidak diinginkan ikut tersegmentasi. Untuk menghilangkan *noise* tersebut digunakan metode *morphological filtering*. Proses menggunakan *morphological filtering* pertama adalah membuang objek yang mempunyai piksel kurang dari 400 piksel. Untuk objek yang mempunyai piksel lebih dari 400 dipertahankan. Proses yang kedua adalah membuat objek menjadi lebih halus dengan cara menutup celah-celah kecil dari objek. Proses ini menggunakan teknik operasi *morfologi* citra, dimana citra yang diperoleh masih perlu dihaluskan garis tepinya menggunakan teknik *closing*. *Closing* merupakan operasi *morfologi* yang dapat dikategorikan sebagai operasi level kedua dengan arti bahwa *closing* didefinisikan sebagai operasi *dilasi* yang dilanjutkan dengan operasi erosi. Pada operasi *closing* cenderung memperhalus objek pada citra dengan cara menyambung pecahan-pecahan dan menghilangkan lubang-lubang kecil pada objek.

Mencari Batas Objek Dan Menghitung Koordinat Titik pusat Objek

Dari gambar 3. terlihat, setelah citra diperbaiki dengan proses *filtering*, berikutnya citra tersebut dicari batasnya menggunakan metode deteksi bidang batas (*boundary detection*) untuk masing-masing objek serta dilabeli untuk setiap objek yang ditemukan. Dari masing-masing objek yang ditemukan, kemudian dicari koordinat titik pusat dari objek (x_b , y_b) tersebut menggunakan persamaan dibawah ini;

$$x_b = \frac{\sum_{i=1}^n A_i x_i}{\sum_{i=1}^n A_i} \quad y_b = \frac{\sum_{i=1}^n A_i y_i}{\sum_{i=1}^n A_i}$$

dengan : A_i adalah luasan piksel di titik (x_i , y_i)
 n adalah jumlah piksel

Pada penelitian ini luasan piksel A_i besarnya 1 satuan, maka diatas menjadi menjadi :

$$x_b = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad y_b = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n}$$

II. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bagian ini akan dijelaskan proses penghitungan otomatis sperma aktif. Proses identifikasi ini nantinya akan menggunakan segmentasi latar belakang dan proses filterisasi citra dari *noise* menggunakan operasi morfologi. Proses berikutnya dilanjutkan dengan memberi label objek citra.

Percobaan ini dibagi 2 bagian dan pengamatan dibatasi dengan durasi proses 200 frame. Percobaan pertama dilakukan pada data sintetis dan data yang didapat dari koleksi UNSW *Embryology*. Percobaan kedua dilakukan pada data real yang diambil dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran lensa objek 40 kali.

Percobaan pada Video Sintetis dan video koleksi

Percobaan ini dilakukan pada data sintetis dan data koleksi UNSW *Embryology*, dengan karakteristik seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik video

No.	Nama File	Asal data	Ukuran frame	durasi
1	test01.avi	UNSW <i>Embryology</i>	512 x 512	390 frame
2	test02.avi	video sintetis	1080 x 621	6800 frame
3	test03.avi	video sintetis	413 x 348	5200 frame

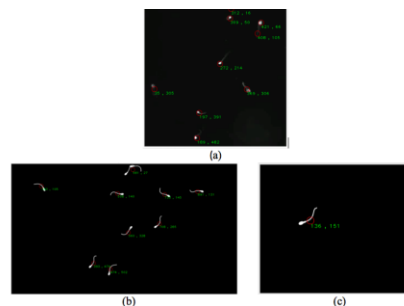
Pada Gambar 3 (a). diperlihatkan citra frame terakhir dari video sintetis dan video koleksi UNSW *Embryology*.

Setelah dilakukan segmentasi latar belakang dan proses filterisasi citra dari *noise* menggunakan operasi morfologi diperoleh citra biner. Berikut pada Gambar 3 (b). ditampilkan citra biner dari frame terakhir pengamatan video sintetis dan video koleksi UNSW *Embryology*.



Gambar 3. (a) Frame terakhir pengamatan video sintetis dan koleksi, (b) Citra biner dari frame terakhir pengamatan video sintetis dan koleksi

Sebagai proses terakhir yaitu memberi label tiap objek citra biner dan menentukan koordinat titik pusat objek citra. Pada Gambar 4. ditampilkan citra hasil penentuan koordinat titik pusat objek pada frame terakhir video sintetis dan video koleksi UNSW *Embryology*.



Gambar 4. Citra hasil penentuan koordinat titik pusat objek dari frame terakhir pengamatan video sintetis dan koleksi

Pada Tabel 2. ditampilkan hasil penghitungan sperma tiap frame video sintetis dan video koleksi UNSW *Embryology*.

Tabel 2. Hasil penghitungan sperma tiap frame video sintetis dan video koleksi UNSW *Embryology*

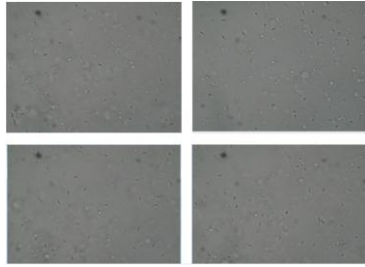
frame	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
test01	9	9	9	9	7	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7
test02	9	9	9	9	9	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
test03	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

.....

frame	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
test01	9	9	8	8	8	8	8	8	8	8	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
test02	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
test03	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

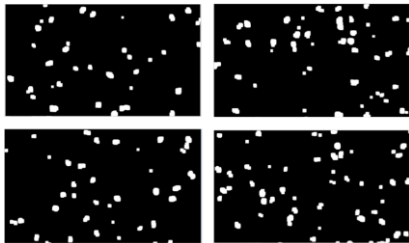
Percobaan pada Data Real

Percobaan ini dilakukan pada 10 data real yang diperoleh dari hasil pemindaian cairan sperma relawan yang bersedia menyumbangkan cairan spermanya. Pengambilan video data real menggunakan *bright field microscope* yang terdapat di Laboratorium Terpadu Politeknik Kesehatan Surabaya dan kamera yang digunakan merk *Point Grey* dengan tipe FL3-U3-13S2C-CS, seperti pada Gambar 5.



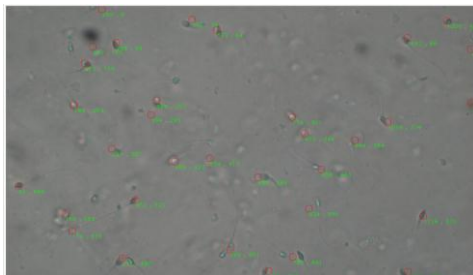
Gambar 5. Frame terakhir 4 (empat) dari 10 (sepuluh) video data real yang diamati

Setelah dilakukan segmentasi latar belakang dan proses filterisasi citra dari *noise* menggunakan operasi morfologi diperoleh citra biner. Berikut pada Gambar 6. ditampilkan citra biner dari frame terakhir video data real.



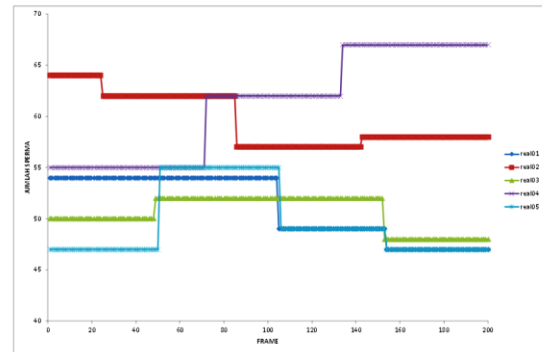
Gambar 6. Citra biner frame terakhir video data real yang diamati,

Sebagai proses terakhir yaitu memberi label tiap objek citra biner dan menentukan koordinat titik pusat objek citra. Pada Gambar 7. ditampilkan citra hasil penentuan koordinat titik pusat objek pada frame terakhir video data real.



Gambar 7. Citra hasil penentuan koordinat titik pusat objek dari citra biner frame

Dan pada Gambar 8. Ditunjukkan grafik hasil perhitungan spermatozoa per-frame.



Gambar 8. Grafik diperoleh dari penggambaran nilai hitung jumlah sperma

Analisa Hasil Keseluruhan

Penilaian atas *spermatozoa* termasuk penghitungan jumlahnya secara persis dapat subjektif dan *debatable*. Dalam tampilan video, hasil identifikasi ditandai dengan lingkaran merah, seperti yang terlihat pada Gambar 7. Ketidakakuratan posisi akan terwakili sebagai *false positive*. Pada gambar tersebut, menunjukkan hasil identifikasi *spermatozoa* pada *frame* terakhir tiap video. Lingkaran merah adalah penanda visual yang dihasilkan untuk identifikasi *spermatozoa*, yang menunjukkan lokasi *spermatozoa* yang teridentifikasi.

Hasil identifikasi yang dilakukan secara manual pada frame terakhir data real01 menunjukkan adanya 49 *spermatozoa* pada frame tersebut. Dari keseluruhan yang ada, 41 di antaranya dapat diidentifikasi secara otomatis dan 2 tidak teridentifikasi. Sehingga perbandingan antara *spermatozoa* yang teridentifikasi otomatis (TP) dan *spermatozoa* hasil identifikasi manual (M) adalah :

$$\frac{TP}{M} = \frac{41}{49} = 84\%$$

Untuk *frame* terakhir dari kesepuluh video data real yang ditampilkan pada Gambar 8, hasilnya diringkas pada Tabel 3. Berdasarkan hasil Tabel 3, diperoleh nilai perbandingan *spermatozoa* yang terdeteksi terhadap *spermatozoa* yang diidentifikasi secara manual mencapai rata-rata 82%. Namun angka tersebut belum menggambarkan akurasi sistem secara keseluruhan, karena ada faktor kesalahan FP (yaitu bukan *spermatozoa* yang teridentifikasi sebagai *spermatozoa*). Namun jika *frame* yang dimaksud diolah secara manual dan

ditingkatkan kontrasnya sedemikian rupa, terkadang akan terlihat bahwa titik yang dianggap *FP* secara manual, ternyata adalah *TP*.

Tabel 3. Hasil penghitungan *spermatozoa* dalam *frame* video

No.	Video	Jumlah spermatozoa hitungan manual (<i>M</i>)	<i>TP</i>	<i>FP</i>	<i>FN</i>	<i>TN</i>	$\frac{TP}{M}(\%)$
1	real01	49	41	2	10	<i>N/A</i>	84
2	real02	58	48	0	10	<i>N/A</i>	83
3	real03	53	45	3	11	<i>N/A</i>	85
4	real04	64	58	3	9	<i>N/A</i>	91
5	real05	52	41	1	12	<i>N/A</i>	79
6	real06	63	39	2	26	<i>N/A</i>	62
7	real07	71	62	0	9	<i>N/A</i>	87
8	real08	67	58	1	10	<i>N/A</i>	87
9	real09	37	26	2	13	<i>N/A</i>	70
10	real10	53	50	1	4	<i>N/A</i>	94

Keterangan tabel :

1. *TP* (*true positive*) adalah jumlah *spermatozoa* yang teridentifikasi pada *frame* video yang cocok dengan identifikasi manual
2. *FP* (*false positive*) adalah jumlah *spermatozoa* yang teridentifikasi secara otomatis oleh sistem, tetapi hasil identifikasi secara manual menyatakan bukan *spermatozoa*.
3. *FN* (*false negative*) adalah jumlah *spermatozoa* yang dengan cara manual teridentifikasi sebagai *spermatozoa*, tetapi tidak teridentifikasi secara otomatis oleh sistem.
4. *TN* (*true negative*) adalah salah satu variabel yang biasanya ada sebagai parameter untuk menentukan *performance* dan akurasi sistem klasifikasi, tetapi dalam kasus ini tidak relevan. Karena memang kinerja yang ditinjau bukanlah klasifikasi.

Dari beberapa kali dilakukan percobaan terhadap 10 (sepuluh) data real *spermatozoa*, terlihat bahwa dalam beberapa kasus, *spermatozoa* dengan intensitas yang sangat jelas tidak teridentifikasi oleh sistem. Di sisi lain, *spermatozoa* yang sangat samar masih bisa diidentifikasi. Hal ini dikarenakan *boundary* dari objek dideteksi bukan berdasarkan level intensitas, tetapi berdasarkan laju perubahan intensitas. Getaran pada mikroskop terkadang menyebabkan semua objek tiba-tiba berpindah tempat, lensa mikroskop kehilangan focus, dan rekaman *image* menjadi *blur*. Hal ini berpotensi menyebabkan sistem sukar mendeteksi

boundary dari *spermatozoa*. Di samping itu riak dari cairan sperma akibat guncangan bisa terdeteksi oleh sistem sehingga menimbulkan garis-garis *edge* palsu sehingga mengganggu proses identifikasi *spermatozoa*. *Frame sequence* yang tidak beraturan dari video menyebabkan pergerakan objek tidak berjalan mulus. Di samping itu getaran pada mikroskop menyebabkan semua objek terkadang tiba-tiba berpindah tempat. Hal ini tidak bisa diolah dengan baik oleh sistem sehingga berpotensi menimbulkan bayangan, sehingga satu *spermatozoa* teridentifikasi sebagai dua. Bagaimana pun, data yang digunakan adalah data berkualitas kurang mencukupi dimana selain diambil dengan mikroskop berkontras rendah, direkam dengan dengan berbagai distorsi misalnya variasi iluminasi, *brightness* yang tidak homogen di seluruh area *image*, noktah hitam pada lensa, dan *frame* video yang tersendat-sendat.

III. SIMPULAN

Berdasarkan hasil uji coba dan analisa pada perangkat lunak yang menggunakan proses segmentasi berbasis citra, operasi morfologi pada proses *filtering* untuk menghitung jumlah sperma, dapat diambil beberapa kesimpulan. Serta ditambahkan saran dalam pengembangan penelitian berikutnya.

1. Dengan perangkat lunak yang dikembangkan, otomatisasi penghitungan sperma pada file video dapat dilakukan.
2. Sistem dengan algoritma yang ditawarkan dinilai cukup untuk melakukan penghitungan sperma walaupun ada kegiatan keluar masuknya sperma selama pengamatan.
3. Sistem dengan algoritma yang ditawarkan, tidak mampu mengidentifikasi adanya 2 sperma yang saling tumpang tindih, karena hal ini dianggap hanya 1 sperma saja.

IV. DAFTAR RUJUKAN

- [1] Abbiramy, V.S., Shanti V., Charanya Allidurai (2010), *Spermatozoa Detection, Counting and Tracking in Video Streams to Detect Asthenozoospermia*, 2010 International Conference on Signal and Image Processing, pp 265 -270, 15-17 Dec 2010.
- [2] Alan Bovik.(2009). *The Essential Guide to Image Processing*.

- [3] Barrow, H.G., Tenenbaum, J.M., Bolles, R.C., and Wolf, H.C (1977), *Parametric Correspondence and Chamfer Matching; Two New Techniques for Image Matching*, Technical Note 153. AI Center, SRI International, 333 Ravenswood Ave, Menlo Park, CA 94025
- [4] Han Si-qi, Wang Lei (2002), *A Survey of Thresholding Methods for Image Segmentation*, Systems Engineering and Electronics. vol.24, no. 6, pp.91-94.
- [5] Hardijanto, Susilowati S., Hernawati T., Sardjito T., Suprayogi T.W. (2010), *Buku Ajar Inseminasi Buatan*, Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair, Surabaya.
- [6] Hayati A. (2010), *Spermatologi*, Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair, Surabaya
- [7] Indah Susilawati. 2009. *Teknik Pengolahan Citra. Mathematical Morphology*. Universitas Mercu Buana, Yogyakarta
- [8] J F Canny, 1986, *A computational approach to edge detection*, IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence. vol.8, no.6, pp. 679-698, 1986.
- [9] Linda G Shapiro, George C Stockman (2001). *Computer Vision*. pp. 279-325, New Jersey, Prentice Hall.
- [10] Murinto Eko Aribowo, Wahyu N. (2001). *Deteksi Jenis Warna Kulit Wajah untuk Klasifikasi Ras Manusia menggunakan Transformasi Warna*. Universitas Ahmad Dahlan Jogjakarta
- [11] Nobuyuki Otsu (1979), *A Threshold Selection Method from GrayLevel Histograms*. IEEE Trans. on System, Man, and Cybernetics. vol.9, no.1, pp.62-66
- [12] Priyanto Hidayatullah, Miftahudin Zuhdi, (2014), *Automatic Sperms Counting using Adaptive Local Threshold and Ellipse Detection*, International Conference on Information Technology Systems and Innovation (ICITSI) 2014 pp.56-61
- [13] T. Sutoyo, Eddy Mulyanto, Vincent Suhartono, Oky Dwi Nurhayati, Wijanarto (2009). *Teori Pengolahan Citra Digital*. Universitas Dian Nuswantoro, Semarang.
- [14] Tamboli, A. Volkert, L.G. (2003), *Computer aided image analysis of mobile microscopic objects: the detection phase*, Bioengineering Conference, *IEEE 29th Annual, Proceedings of* , vol., no., pp. 79-80, 22-23 Maret 2003.
- [15] World Health Organization (2010), *WHO Laboratory Manual for The Examination and Processing of Human Semen*, 5th edition, Switzerland.
- [16] Yaheng Ren, Peizhi Wen, and Song Li, Yuanyuan Liang, and Wengming Huang (2010), *An improved algorithm of rat sperm image segmentation and counting*. Intelligent Computing and Integrated Systems (ICISS), 2010 International Conference, pp. 201– 204